

| | | |
|---|---------------------------------------|---|
| Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion — Faculty Matemaattis-luonnontieteellinen tdk. | | Laitos — Institution — Biotieteiden laitos |
| Tekijä — Författare — Author Luoma, Petri | | |
| Työn nimi — Arbetets titel — Title PCR-tekniikalla monistettavien ja leimattavien DNA-kirjastojen luonti kromosomimaalauksella varten | | |
| Oppiaine — Läroämne — Subject Perinnöllisyystiede | | |
| Työn laji — Arbetets art — Level Pro gradu -tutkielma | Aika — Datum — Month Helmikuu 1996 | Sivumäärä — Sidoantal- Number 57 s. + 6 liitettä |
| <p>Tiivistelmä — Referat — Abstract</p> <p>Biologiassa dosimetriassa on uutena menetelmänä otettu käyttöön kromosomimaalaukseen perustuva translokaatioanalyysi. Säteilyn aiheuttamat kaksoisjuostekatkokset ja niistä virheellisen korjauksen seurauksena syntyneiden translokaatioiden frekvenssi voidaan arvioida genomifraktion translokaatiofrekvenssin perusteella. Frekvenssi voidaan laskea maalauksella 1-3 suurinta kromosomiparia DNA-koettimeella ja värjäämällä loput vastavärillä (propidiumjodidi). Translokaatiot voidaan tällöin helposti erottaa kaksivärisinä kromosomeina. Maalauksessa yleisesti käytettyjä kromosomispesifisiä faagikirjastoja ei kuitenkaan ole luotu ensisijaisesti tätä tarkoitusta varten, vaan pikemminkin geenikartoitukseen ja yksittäisten kloonien eristämiseen.</p> <p>Tässä työssä kromosomispesifisiä faagikirjastoja pyrittiin muokkaamaan kromosomimaalaukseen paremmin sopiviksi PCR-kirjastoiksi, joiden ylläpito (monistaminen) ja leimaaminen olisi helpompaa ja taloudellisempaa kuin faagikirjastoilla. Muuntaminen suoritettiin faagikirjastosta eristetyille ihmisen DNA-fragmenteille pilkkomalla ne edelleen keskimääräiseltä kooltaan pienemmiksi fragmenteiksi ja liittämällä näiden päihin linkkeri-adapteri, jonka avulla kyseiset fragmentit voitiin monistaa ja leimata PCR-tekniikalla. Kromosomispesifisiä faagikirjastoja monistettiin ja leimattiin myös muilla menetelmillä kuten DOP-PCR:llä sekä λ-PCR:llä.</p> <p>Käytettäessä kromosomille 2 spesifistä λ-kirjastoa lähtömateriaalina, ei millään käytetyistä menetelmistä saatu aikaan tasaisesti tai riittävän intensiivisesti maalautuvia metafasekromosomeja. Ainoastaan sentromeerialue maalautui aina kirkkaasti huolimatta Cot-1-DNA-suppressiosta. Paras maalautuminen saatiin aikaan monistamalla faagi-kirjastoa λ-alukkeilla ja suorittamalla leimaus nick-translaatio-menetelmällä. Tulos ei kuitenkaan ollut niin hyvä että koetin olisi voitu kelpuuttaa rutiinikäyttöön. Kontrollimateriaalilla (ihmisen kokonais-DNA) tehdyt kokeet kuitenkin osoittivat että käytetyt menetelmät toimivat sinänsä hyvin, antaen osaltaan aiheutta epäillä että alkuperäisissä faagikirjastoissa oli tapahtunut repetitiivisten sekvenssien rikastumista.</p> | | |
| Avainsanat — Nyckelord — Keywords kromosomimaalaus, faagikirjasto, subkloonaus, PCR-kirjasto | | |
| Säilytyspaikka — Förvaringsställe — Where deposited Perinnöllisyystieteen osasto | | |
| Muita tietoja — Övriga uppgifter — Additional information | | |